



IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of : Shiqin XIONG et al.

Serial No.: 10/608,449

~~Group Art Unit: 1647~~

Filed: June 30, 2003

Examiner: HAMUD, Fozia M.

For: POLYNUCLEOTIDE ENCODING HUMAN INTERLEUKIN-17 RECEPTOR  
LIKE MOLECULE

**SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT(S)**

**MAIL STOP ISSUE FEE**

Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

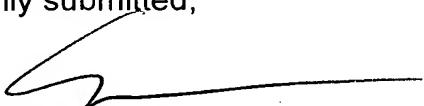
Submitted herewith is a certified copy of each of the below-identified document, benefit of priority of each of which is claimed under 35 U.S.C. § 119:

COUNTRY	APPLICATION NO.	FILING DATE
JAPAN	02123447.7	June 28, 2002

Acknowledgment of the receipt of the above document(s) is requested.

No fee is believed to be due in association with this filing, however, the Commissioner is hereby authorized to charge fees under 37 C.F.R. §§ 1.16 and 1.17 which may be required to facilitate this filing, or credit any overpayment to Deposit Account No. 13-3402.

Respectfully submitted,

  
Anthony J. Zelano, Reg. No. 27,969  
Attorney/Agent for Applicants

MILLEN, WHITE, ZELANO  
& BRANIGAN, P.C.  
Arlington Courthouse Plaza I  
2200 Clarendon Blvd. Suite 1400  
Arlington, Virginia 22201  
Telephone: (703) 243-6333  
Facsimile: (703) 243-6410

Attorney Docket No.: NTD-0002

Date: October 11, 2006



# 证 明

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

请 日： 2002.06.28

请 号： 02123447.7

请类 别： 发明

发明创造名称： 人白细胞介素-17受体样蛋白及其编码基因与应用

申请人： 清华大学

CERTIFIED COPY OF  
PRIORITY DOCUMENT

发明或设计人： 熊世勤、常智杰、傅新元

中华人民共和国  
国家知识产权局局长

回力善

2006年9月14日

# 权 利 要 求 书

1、一种人白细胞介素-17 受体样蛋白，它具有序列表中序列 2 的氨基酸残基序列或将序列 2 的氨基酸残基序列经过一个或几个氨基酸残基的取代、缺失或添加且具有与序列 2 的氨基酸残基序列相同活性的由序列 2 衍生的蛋白质。

2、根据权利要求 1 所述的蛋白质，其特征在于：所述蛋白质具有序列表中序列 2 的氨基酸残基序列。

3、一种人白细胞介素-17 受体样蛋白的编码基因，它是下列核苷酸序列之一：

1) 序列表中序列 1 的 DNA 序列；

2) 与序列表中序列 1 限定的 DNA 序列具有 95% 以上同源性，且编码相同功能蛋白质的 DNA 序列。

4、根据权利要求 3 所述的基因，其特征在于：所述人白细胞介素-17 受体样蛋白的编码基因是序列表中序列 1 的 DNA 序列。

5、权利要求 1 所述的人白细胞介素-17 受体样蛋白在使 Stat5 因子活化中的应用。

6、权利要求 1 所述的人白细胞介素-17 受体样蛋白在介导细胞增殖中的应用。

7、权利要求 1 所述的人白细胞介素-17 受体样蛋白在制造促进或抑制精子形成的药物中的作用。

8、权利要求 1 所述的人白细胞介素-17 受体样蛋白在高等生物抑制 FGF 介导的下游信号通路中的应用。

# 说 明 书

## 人白细胞介素-17 受体样蛋白及其编码基因与应用

### 技术领域

本发明涉及一种人白细胞介素-17 受体样蛋白及其编码基因与应用。

### 背景技术

白细胞介素是一类重要的细胞因子，可以通过与靶细胞膜表面的特异受体结合而介导广泛的生物学作用，诸如：细胞增殖、分化、造血调节、免疫及炎症应答等。白细胞介素 17(IL-17/IL-17A) 是 IL-17 家族第一个被克隆的 T 细胞来源的促炎症细胞因子。人 IL-17 通常以一个二硫键连接组成的同二聚体分泌性糖蛋白形式存在，分子质量为 30~35 kD。尽管 IL-17 只在局限的组织和细胞系表达，但却有广泛的生物学功能，尤其是在促炎症和造血功能方面较为突出，与 IL-17 的低亲和力受体—IL-17R 广泛表达相一致。IL-17 还能刺激多种细胞因子的产生，如：来源于巨嗜细胞的肿瘤坏死因子 $\alpha$ ，来源于成纤维细胞的 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、ICAM-1 以及来源于滑膜细胞的 G-CSF、PGE2，因此可介导多种生物学作用。

尽管目前至少已克隆了 7 种 IL-17 家族成员，但有关该家族成员的受体研究却知之甚少。IL-17R 是第一个被鉴定的 IL-17 受体家族成员，广泛表达于多种不同的组织。但是，IL-17 与 IL-17R 的亲和力较弱，与 IL-17 具有的广泛的生物学功能并不匹配，并且 IL-17R 并不含有与先前已知蛋白相似的结构。IL-17Rh1/IL-17BR 与 IL-17R 一样，并不含有与先前已知蛋白相似的结构域，但它们的胞外结构域具有保守的胱氨酸残基，胞内结构域含有与 IL-17R 相似的氨基酸残基序列，暗示它们可能具有相似的下游信号事件。研究结果表明：NF- $\kappa$ B 是它们共同介导的下游信号分子。

曾报道，IL-17A 和 IL-17E 能诱导核转录因子 NF- $\kappa$ B 的活化，另外也有研究结果表明 IL-17A 所诱导的下游信号事件包括活化胞外调控激酶(ERK-1/ERK-2)，氮末端激酶(JNK, c-Jun), p38 有丝分裂原激酶, Raf、Stats 等下游信号分子。IL-17AR 的敲基因小鼠研究表明，在肿瘤坏死因子- $\alpha$ 结合因子-6(TRAF-6) 缺陷的细胞系，IL-17 诱导的下游信号事件明显阻断，提示 TRAF-6 对于 IL-17 刺激的信号是必要的。由于已知的几种 IL-17 受体成员的胞内结构域并不含有与 Toll/IL-1R 相似的结构，因此寻找和鉴定未知的 IL-17 家族成员的潜在受体显得尤其必要。

### 发明内容

本发明的目的是提供一种新的人白细胞介素-17 受体样蛋白。

一种人白细胞介素-17 受体样蛋白，它具有序列表中序列 2 的氨基酸残基序列或

将序列 2 的氨基酸残基序列经过一个或几个氨基酸残基的取代、缺失或添加且具有与序列 2 的氨基酸残基序列相同活性的由序列 2 衍生的蛋白质。

本发明的人白细胞介素-17 受体样蛋白命名为 hIL-17RLM-L，是一种 I 型单跨膜细胞因子受体，由 739 个氨基酸残基组成。hIL-17RLM-L 氨末端含有一个 17 个氨基酸组成的信号肽，一个跨膜结构域和一个较长的胞浆结构域。此外其较长的胞浆结构域还含有一个潜在的 SH3 相互作用结构域和众多的酪氨酸磷酸化部位，在胞浆邻膜区含有一个 Toll/IL-1 受体样结构域-TIR（其它已知的 IL-17 受体样蛋白不含有 TIR 结构域）。

本发明采用多组织 Northern Blot 方法，检测了 hIL-17RLM-L 的 mRNA 组织表达分布，结果表明：hIL-17RLM-L mRNA 主要在肾及睾丸表达，少量在心、脑、脾、子宫表达，并且主要表达在细胞膜及细胞浆部位。在肝、肺、外周血和胸腺几乎无表达。RT-PCR 检测表明 hIL-17RLM-L 在大多数细胞系有表达。hIL-17RLM-L 在生精过程中具有细胞表达特异性，主要在睾丸组织的生精细胞、支持细胞表达，而在曲细精管基底膜部位的成纤维细胞和睾丸支持组织部位的间质细胞染色阴性。在隐睾组织，生精过程中止，但是 hIL-17RLM-L 在曲细精管的生精细胞却有极强的染色。

本发明的第二个目的是提供编码人白细胞介素-17 受体样蛋白的基因。

一种人白细胞介素-17 受体样蛋白的编码基因，它是下列核苷酸序列之一：

- 1) 序列表中序列 1 的 DNA 序列；
- 2) 与序列表中序列 1 限定的 DNA 序列具有 95% 以上同源性，且编码相同功能蛋白质的 DNA 序列。

本发明人白细胞介素-17 受体样蛋白 hIL-17RLM-L 的编码基因由 4477 个碱基组成，位于人的 3 号染色体(3p21.1)上，由 13 个外显子横跨 12 万个碱基翻译成蛋白前体。

研究表明，本发明的人白细胞介素-17 受体样蛋白可以使 Stat5 因子活化、介导细胞增殖，并可望在促进或抑制精子形成的药物中得到应用。

#### 具体实施方式

##### 实施例 1、hIL-17RLM-L 基因的克隆及表达

根据 EST 拼接和 hIL-17RLM(595aa) 的人类基因组结构，以及蛋白 blast NCBI EST 和 trace 数据库而预测到 hIL-17RLM(595aa) 存在一个更长的选择性剪切形式，命名为 hIL-17RLM-L。

根据预测的 hIL-17RLM-L 的 cDNA 序列，设计引物，将其分子克隆。以 293T 和睾丸的总 RNA 为模板，通过 RT-PCR 将其克隆到 T-A 载体，并测序。测序结果与预测的

编码 cDNA 完全一致。其 5' 端未翻译区含有终止密码子及 Kozak 序列，长度为 4477bp。编码一个由 739 个氨基酸组成的单跨膜糖蛋白。按照 SignalP 信号肽预测软件分析结果，其含有一个由 17 个氨基酸组成的信号肽：MAPWLQLCSVFFTVNAC。按照 HMMTOP, SOSUI, TMHMM, Tmpred, TopPred 2 等蛋白跨膜区预测软件分析结果，其跨膜区由 23 个氨基酸组成 ( $I^{298}-M^{320}$ )：IRAVAITVPLVVISAFATLFTVM。另外在由 297 个氨基酸组成的胞外区含有 8 个胱氨酸残基，9 个潜在的 N- 糖基化位点和一个假想的 IgG 样结构域。其较长的胞浆结构域 (519aa) 还含有一个潜在的 SH3 相互作用结构域 (脯氨酸富集区) 和众多的酪氨酸磷酸化部位，在胞浆邻膜区含有一个 Toll/IL-1 受体样结构域 (TIR)。因为在其它已知的 IL-17 受体样分子并不含有 TIR 结构域，因此暗示 hIL-17RLM-L 胞内区具有重要信号潜力。

为了进一步深入研究 hIL-17RLM-L 及其选择性剪切形式的生物学功能，首先制备了抗人 IL-17RLM 的兔多克隆抗血清，选择 hIL-17RLM-L 胞内区的一段多肽 ( $M^{320}-I^{457}$ )，该段多肽包含潜在预测的 Toll/IL-1R/MyD88 样结构域—TIR 和 IL-17 受体样结构域，也包含 hIL-17RLM-L 潜在的酪氨酸磷酸化部位 —Y<sup>329</sup>。将这段开放阅读筐亚克隆入 pGEX4T-1 原核表达载体，构建 GST-hIL-17RLM-L 融合蛋白表达载体，在大肠杆菌 BL21 中诱导表达。借助 GST 亲和层析柱—GSTrapFF，纯化了 GST-hIL-17RLM-L 融合蛋白。进而，对家兔实行加强注射，获得效价和特异性极高的抗 hIL-17RLM-L 兔多克隆抗血清。经测试，ELISA 效价达 1: 100000，Western blot 效价达 1: 5000—10000。

将 hIL-17RLM-L 构建于 pcDNA3 真核表达载体，以便其在真核细胞瞬时表达和稳定表达。将 hIL-17RLM-L 瞬时转染于 Cos7 细胞，检测其在胞内的表达和糖基化情况。hIL-17RLM-L 在 Cos7 细胞的表达显示其分子量约为 100kD。

对 hIL-17RLM-L 在细胞器的表达定位进行研究。将 hIL-17RLM-L 构建于 EGFP-N1 真核表达载体，将其瞬时转染 Cos7 细胞，结果显示其主要表达在细胞膜上。

### 实施例 2、hIL-17RLM-L 胞内结构域的功能——活化 Stat5 和介导细胞增殖

hIL-17RLM-L 胞内区含有潜在的 TIR 结构域，IL-17R 样结构域，SH3 相互作用结构域和众多的酪氨酸磷酸化位点，提示其胞内区可能具有潜在的信号潜力。本发明的发明人构建了一系列嵌合受体，通过对 hIL-17RLM-L 胞内区人工二聚化，证实了其传递信号的能力。

发明人将 EPOR 的胞外区和跨膜区与 hIL-17RLM 的胞内区构建一嵌合受体，借助 EPO 的刺激，进而检测 hIL-17RLM-L 的胞内区传递信号的潜力。首先进行了荧光素酶报道分析，瞬时共转染指示的受体表达质粒，Stat5 应答的荧光素酶报道质粒 4FTKSLN，pRL-TK 载体（内对照），转染 36 小时后，使用重组人 EPO 刺激或不刺激（PBS）约 30

分钟后，收获细胞，进行荧光素酶报道分析。结果显示：EPOR/hIL-17RLM-L 嵌合受体与全长 EPOR 一样，在 EPO 的刺激作用下，能够介导 Stat5 的活化；并且当共转染 Stat5 的负显性突变体（dominant mutant）-Stat5 CYF 时，EPOR/hIL-17RLM-L 嵌合受体介导 Stat5 的活化被明显抑制；全长 hIL-17RLM-L 的过表达并不能介导 Stat5 的活化。这个结果暗示，hIL-17RLM-L 的胞内区具有能够介导 Stat5 活化的潜力。

Stat5 活化的一个重要标志是其在 Jak 激酶的作用下，Stat5 的酪氨酸被磷酸化，然后转位入核，介导下游靶基因的表达。为了进一步检测 hIL-17RLM-L 的胞内区介导 Stat5 活化的潜力，采用免疫沉淀方法，检测 EPOR/hIL-17RLM-L 是否能够介导 Stat5 酪氨酸磷酸化。在 Cos7 细胞共转染嵌合受体—EPORextm/hIL-17RLM-Licd 或全长 EPOR 或空载体（Mock），Jak2，stat5 高纯度表达质粒。在 EPO 刺激前 30 分钟，培养基中补加 NaV<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 以抑制内源性磷酸化酶的水解。使用重组人 EPO 刺激或不刺激（PBS）约 30 分钟后，收获细胞，制备总细胞裂解液，一部分用于免疫沉淀，另一部分直接用于 Western blot 以检测转染质粒的表达情况。结果表明：EPORextm/hIL-17RLM-Licd 嵌合受体同 EPOR 一样，在 EPO 的刺激下，能够介导 Stat5 酪氨酸磷酸化；而在 EPO 未刺激组和空载体组，并未检测到 Stat5 酪氨酸磷酸化。这一结果进一步表明 hIL-17RLM-L 的胞内区能够介导 Stat5 酪氨酸磷酸化。

为了进一步证实 hIL-17RLM-L 胞内区具有介导 Stat5 活化的潜力，采用 gel shift assay 以分析是否 EPOR/hIL-17RLM-L 嵌合受体能够介导细胞核抽提物 Stat5-DNA 结合复合体的形成，以证实其介导 Stat5 活化。具体做法是共转染指示的表达质粒于 Cos7 细胞，在 EPO 的作用后，制备细胞核抽提物，进行凝胶电泳阻滞分析实验。实验结果显示：EPORextm/hIL-17RLM-Licd 嵌合受体同 EPOR 一样，在 EPO 的刺激下，能够介导 Stat5-DNA 结合复合体的形成；而在 EPO 未刺激组和空载体组，并未检测到 Stat5-DNA 结合复合体的形成。采用冰冷的未标记的特异性结合 Stat5 的 DNA 探针，能够竞争性抑制 Stat5-DNA 结合复合体的形成。这一结果表明：hIL-17RLM-L 胞内区具有介导特异性 Stat5-DNA 结合复合体形成的特性。

为了进一步确定 Stat5-DNA 结合复合体的特异性和 Stat5 具体成分，分别借助抗 Stat5ab, Stat5b, Stat1 和 Stat3 特异性抗体，进行了 Supershift 分析实验。结果显示：抗 Stat5ab 或 Stat5b 能够显著超迁移这个 DNA 结合复合体，而 Stat1 或 Stat3 特异性抗体却并不能超迁移这个 DNA 结合复合体，暗示 EPOR/hIL-17RLM-L 嵌合受体所介导的 Stat5-DNA 结合复合体主要为 Stat5b-DNA 复合体。这一结果进一步表明了 hIL-17RLM-L 胞内区具有活化 Stat5 信号的潜力。

上述实验结果显示：hIL-17RLM-L 具有活化 Stat5 的信号潜力。为了进一步鉴定

是否细胞内稳定表达的 EPORextm/hIL-17RLM-Licd 嵌合受体在重组人红细胞生成素 (rhEPO) 的刺激下也具有介导 Stat5 活化的信号能力，建立了稳定表达细胞系，命名为稳定表达 EPOR 和 EPORextm/hIL-17RLM-Licd 的阳性细胞系 Ba/F3，采用 Northern blot 和 western blot 方法鉴定具有稳定表达 EPOR 和 EPORextm/hIL-17RLM-Licd 嵌合受体的阳性细胞克隆。

对稳定表达 EPOR 和 EPORextm/hIL-17RLM-Licd 的阳性 Ba/F3 细胞系进行 gel shift assay 实验。结果表明：EPOR/hIL-17RLM-L 与 EPhIL-17RLM-LOR 稳定表达细胞系一样，EPO 能够以时间依赖方式诱导其细胞核抽提物 Stat5-DNA 结合复合体的形成；然而在野生型 Ba/F3 细胞系，却并未诱导其细胞核抽提物 Stat5-DNA 结合复合体的形成。进一步表明 hIL-17RLM-L 的胞内区具有活化 Stat5 的信号能力。

Supershift 分析结果显示：采用抗 Stat5ab 或 Stat5b，能够超迁移 Stat5-DNA 结合复合体，然而采用抗 Stat5a 或 Stat1 特异性抗体却并未超迁移 Stat5-DNA 结合复合体。这表明 EPOR/hIL-17RLM-L 嵌合受体主要介导 Stat5b 的活化，而不是 Stat5a 的活化。另外，使用冰冷的未标记 Stat5 DNA 特异性结合探针，能够特异地竞争性抑止 Stat5-DNA 结合复合体地形成，而使用无关的探针却不能竞争性抑止 Stat5-DNA 结合复合体地形成。这些结果充分证明了 EPOR/hIL-17RLM-L 嵌合受体主要介导 Stat5b 的活化，而不是 Stat5a 的活化。这一结果也与通过瞬时过量表达 EPOR/hIL-17RLM-L 在 Cos7 细胞所介导 Stat5 活化的结果相吻合。据此可以得出，在 Cos7 细胞瞬时过量表达和在 Ba/F3 细胞稳定表达 EPORextm/hIL-17RLM-Licd 嵌合受体都能够介导 Stat5 活化，表明 hIL-17RLM-L 胞内区具有活化转录因子 Stat5 的信号潜力。

通常，I 型细胞因子受体应答其偶连配体具有传递细胞增殖的信号能力。借助 [<sup>3</sup>H]-Thymidine 整合，进行了细胞增殖分析实验。结果表明：EPORextm/hIL-17RLM-Licd 嵌合受体稳定表达的 Ba/F3 细胞系和 EPOR 稳定表达的 Ba/F3 细胞系一样，能够应答 EPO 的刺激，出现细胞增殖现象，并且这种增殖效应为 EPO 浓度依赖的方式和刺激时间依赖的方式。这暗示 hIL-17RLM-L 的胞内结构域具有传递细胞增殖的信号潜力。

### 实施例 3、hIL-17RLM-L 与 FGFRs 的相互作用、共定位及对细胞分化的影响

免疫沉淀和 Western blot 结果显示：hIL-17RLM-L 能够与爪蟾 (Xenopus) mFGFR1 或 mFGFR2 在瞬时共转染的 Cos7 细胞相互作用。但并未检测到 hIL-17RLM-L 与 mFGFR3 或 mFGFR4 的相互作用。

为了进一步确定 hIL-17RLM-L 与 mFGFR1 或 mFGFR2 的相互作用，进行了免疫染色实验，并进行 Merge 分析。Merge 实验结果显示，hIL-17RLM-L 与 mFGFR2 共定位于细胞膜和胞

浆部位。

为了探讨是否hIL-17RLM-L与FGFR1或FGFR2在人体内源性组织中共定位表达。首先借助常规免疫组化的方法，检测hIL-17RLM-L、FGFR1和 FGFR2在人体组织中的原位表达分布。结果表明：hIL-17RLM-L、FGFR1和 FGFR2在人体肾和睾丸组织中具有非常相似的表达分布，表达在组织的相同细胞类型，并且主要表达在组织细胞膜及细胞浆部位。另外FGFR1在肾及睾丸组织中的表达明显强于FGFR2的表达。

为了进一步确定是否hIL-17RLM-L与FGFR1在人体某些组织共定位表达，使用人多组织阵列（tissue array），采用双重或三重免疫组化染色试剂盒，大量筛选了hIL-17RLM-L与FGFR1在人体多种组织中的表达分布，并进行merge分析。结果显示：在睾丸、肾组织，hIL-17RLM-L（绿光）和FGFR1（红光）具有极强的阳性免疫染色，并且具有非常相似的表达样式和细胞特异性。另外merge实验分析结果表明，hIL-17RLM-L和FGFR1明显共表达定位于睾丸组织的特异细胞类型。在肾组织和其它组织，尽管hIL-17RLM-L和FGFR1具有较强的阳性免疫染色和相似的表达分布，但是merge结果却并未显示hIL-17RLM-L和FGFR1的共定位表达分布。这表明hIL-17RLM-L和FGFR1的共定位表达分布具有组织特异性。也暗示hIL-17RLM-L与FGFR1在睾丸组织生精细胞中的特异性共定位表达很可能与精子的形成有关。

#### 实施例 4、hIL-17RLM-L 抑制 FGF 介导的下游信号通路

有资料表明：FGF 介导的下游 Ras-Raf-MEK-MAPK 信号通路受 Sprouty 家族成员的负调节。在早期斑马鱼胚胎发育过程中，由于 FGF3, FGF8, sprouty2, sprouty4 与 zSef/zIL-17RLM-L 为一协同表达组。因而，我们假设 hIL-17RLM-L 有可能同 sprouty 家族成员一样，具有在高等生物抑制 FGF 介导的下游信号通路及相应的某些生物学功能。

实验中，首先构建了 EGFP-tagged hIL-17RLM-L(WT)，EGFP-hIL-17RLM-Lecdtm(ΔC)（含有 hIL-17RLM-L 的胞外结构域和跨膜结构域），EGFP-hIL-17RLM-Ltmcyd(ΔN)（含有 hIL-17RLM-L 的胞内结构域和跨膜结构域）和 EGFP-hIL-17RLM-L(DN:Δ327-333)（缺失含有潜在酪氨酸磷酸化部位的一段基因序列）真核表达质粒。经 DNA 测序证实和 western blot 检测其在细胞的过表达正确。

在大鼠嗜铬神经细胞瘤细胞系—PC12 细胞过表达上述真核表达质粒，转染 36 小时后，使用碱性成纤维细胞生长因子（FGF2）刺激细胞约 72 小时后，荧光显微镜拍照和计数细胞分化的百分率。结果显示：野生型 hIL-17RLM-L 能够显著抑制 FGF2 诱导 PC12 细胞的分化。然而，野生型全长 hIL-17RLM 对 FGF2 诱导 PC12 细胞分化的这种抑制作用能够被 EGFP-hIL-17RLM-Lecdtm(ΔC) 逆转，但并不能够被

EGFP-hIL-17RLM-Ltmcyd(ΔN)和EGFP-hIL-17RLM-L(DN:Δ327-333)所逆转。这一结果暗示：hIL-17RLM-L的胞内结构域对与hIL-17RLM-L对FGF2诱导PC12细胞分化的抑制作用是必需的，然而hIL-17RLM-L的胞外结构域以及hIL-17RLM-L的胞内区潜在酪氨酸磷酸化部位却并不需要。这一结果也表明：hIL-17RLM-L的胞内结构域是对FGF2诱导PC12细胞分化抑制作用的功能结构域。

12

## 序列表

<160>2

<210>1

<211>4477

<212>DNA

<213>人属人种 (Homo sapiens)

<400>1

gcggccgccc	cgccaccgc	ccactcgaaa	ctggccagcg	gcggggcggcc	ggggcgcaga	60
gaacggcctg	gctggcgag	cgcacggcca	tggccccgtg	gctgcagctc	tgctccgtct	120
tctttacgtt	caacgcctgc	ctcaacggct	cgcagctggc	tgtggccgct	ggcgggtccg	180
gccgcgcgcg	gggcgcgcac	acctgtggct	ggaggggagt	ggggccagcc	agcagaaaaca	240
gtgggctgta	caacatcacc	ttcaaataatg	acaattgtac	cacctacttg	aatccagtgg	300
ggaagcatgt	gattgctgac	gcccagaata	tcaccatcag	ccagttatgct	tgccatgacc	360
aagtggcagt	caccattctt	tggtccccag	gggcgcctcg	catcgaattc	ctgaaaaggat	420
ttcgggtaat	actggaggag	ctgaagtcgg	agggaaagaca	gtgccaacaa	ctgattctaa	480
aggatccgaa	gcagctcaac	agtagcttca	aaagaactgg	aatggaaatct	caaccttcc	540
tgaatatgaa	atttggaaacg	gattatttcg	taaaggttgt	ccctttcct	tccattaaaa	600
acgaaagcaa	ttaccaccct	ttcttctta	gaacccgagc	ctgtgacctg	ttgttacagc	660
cggacaatct	agcttgtaaa	cccttctgga	agcctcgaaa	cctgaacatc	agccagcatg	720
gctcgacat	gcaggtgtcc	ttcgaccacg	caccgcacaa	cttcggcttc	cgtttcttct	780
atcttcacta	caagctcaag	cacgaaggac	ctttcaagcg	aaagacctgt	gagcaggagc	840
aaactacaga	gatgaccagc	tgcctccttc	aaaatgttc	tccagggat	tatataattg	900
agctggtgga	tgacactaac	acaacaagaa	aagtgtatgc	ttatgcctt	aagccagtgc	960
actccccgtg	ggccgggccc	atcagagccg	tggccatcac	agtgccactg	gtagtcata	1020
cggcattcgc	gacgctcttc	actgtgatgt	gccgcaagaa	gcaacaagaa	aatatataatt	1080
cacatttaga	tgaagagagc	tctgagtctt	ccacatacac	tgcagcactc	ccaagagaga	1140
ggctccggcc	gcggccgaag	gtctttctt	gctattccag	taaagatggc	cagaatcaca	1200
tgaatgtcg	ccagtgtttc	gcctacttcc	tccaggactt	ctgtggctgt	gaggtggctc	1260
tggacctgt	ggaagacttc	agcctctgta	gagaagggca	gagagaatgg	gtcatccaga	1320
agatccacga	gtcccagtcc	atcattgtgg	tttggccaa	aggtatgaag	tactttgtgg	1380
acaagaagaa	ctacaaacac	aaaggaggtg	gccgaggctc	ggggaaagga	gagctttcc	1440
tggtggcggt	gtcagccatt	gccgaaaagc	tccggccaggc	caagcagagt	tcgtccgcgg	1500
cgctcagcaa	gtttatcgcc	gtctacttgc	attattccgt	cgagggagac	gtccccggta	1560
tcctagaccc	gagtaccaag	tacagactca	tggacaatct	tcctcagctc	tgttccacc	1620
tgcactcccg	agaccacggc	ctccaggagc	cggggcagca	cacgcgacag	ggcagcagaa	1680
ggaactactt	ccggagcaag	tcaggccggt	ccctatacgt	cgccatttgc	aacatgcacc	1740
agtttattga	cgaggagccc	gactggttcg	aaaagcagtt	cgttcccttc	catcctcctc	1800

13

cactg <del>eg</del> cta ccgggagcca gtctggaga aattt <del>g</del> attc gggcttggtt ttaaatgatg	1860
tcatgt <del>g</del> caa accaggcc <del>t</del> gagagt <del>g</del> act tctgcctaaa ggt <del>a</del> gaggcg gctgttctg	1920
gggcaaccgg accagccgac tcccagcacg agagt <del>c</del> agca tggggcc <del>t</del> gaccaagacg	1980
gggaggccccg gc <del>c</del> tgcc <del>c</del> tt gacggtagcg cgc <del>c</del> ctgca accc <del>c</del> tgctg cacacgg <del>t</del> ga	2040
aagccggc <del>a</del> g cccctcg <del>g</del> ac atgccc <del>g</del> gg actcaggcat ctatgactcg tctgtgcc <del>c</del> ct	2100
catccgag <del>c</del> t gtctctgcca ctgat <del>g</del> gaag gactctg <del>c</del> ac ggaccagaca gaaacgt <del>c</del> tt	2160
ccctgac <del>g</del> ga gac <del>g</del> gtgtcc tc <del>c</del> tcttc <del>g</del> ag gc <del>c</del> ttgggtga ggaggg <del>a</del> acct cctgc <del>c</del> cttc	2220
cttccaag <del>c</del> t cctctt <del>c</del> t ggg <del>c</del> atgca aagcagat <del>c</del> t tggttgc <del>c</del> gc agt <del>c</del> act <del>c</del> tg	2280
atgaact <del>c</del> ca cg <del>c</del> gg <del>t</del> cg <del>c</del> cc cctt <del>g</del> taac aaaacgaaag agt <del>c</del> taag <del>c</del> ca ttg <del>c</del> ca <del>c</del> ttt	2340
ag <del>c</del> tgctg <del>c</del> cc tcc <del>c</del> t <del>c</del> tgat tccc <del>c</del> ag <del>c</del> tc at <del>c</del> cc <del>c</del> t <del>g</del> gg ttg <del>c</del> atgg <del>c</del> cc cacttgg <del>g</del> ag <del>c</del> c	2400
tgagg <del>t</del> ct <del>c</del> ca tacaaggata tttggag <del>t</del> ga aatg <del>c</del> tgg <del>c</del> cc agt <del>a</del> ctt <del>t</del> gtt ctcc <del>c</del> tt <del>g</del> cc	2460
ccaacc <del>c</del> ttt accggat <del>a</del> tc ttgac <del>a</del> act ct <del>c</del> ca <del>a</del> ttt ct <del>a</del> aaat <del>g</del> at atggag <del>c</del> t <del>c</del> t	2520
gaaagg <del>c</del> at <del>g</del> tccataagg <del>t</del> ctgac <del>a</del> ac <del>g</del> cttgc <del>c</del> aaat ttgg <del>t</del> tag <del>t</del> cttggat <del>c</del> ag <del>t</del>	2580
ag <del>c</del> c <del>t</del> gtt <del>t</del> gtt gggag <del>g</del> tag <del>g</del> gaggaaat <del>t</del> gtaaagaaaa acaggaag <del>a</del> t ac <del>t</del> gc <del>a</del> ct <del>a</del>	2640
atcattcaga ct <del>c</del> t <del>c</del> att <del>g</del> ag ct <del>c</del> t <del>g</del> caa <del>a</del> ac tttgc <del>c</del> t <del>g</del> tt tgctatt <del>g</del> gc tac <del>c</del> tt <del>g</del> att <del>t</del>	2700
tgaaat <del>g</del> ctt t <del>g</del> t <del>g</del> aaaaaaa ggcact <del>t</del> tt <del>a</del> acatcat <del>g</del> ac cacagaaat <del>c</del> aagt <del>g</del> cc <del>a</del> gt <del>t</del>	2760
ctatctg <del>g</del> aa tccat <del>g</del> tt <del>t</del> gtt att <del>g</del> c <del>a</del> gata at <del>t</del> tt <del>c</del> t <del>c</del> at ttat <del>t</del> tt <del>g</del> ta t <del>g</del> t <del>g</del> aa <del>t</del> tt	2820
acattg <del>c</del> cat <del>g</del> ggg <del>t</del> gtt <del>aaa</del> taag <del>c</del> tt <del>g</del> ta gtc <del>a</del> aa <del>a</del> gt <del>t</del> ca ctg <del>a</del> at <del>a</del> ta <del>c</del> ac <del>t</del> c <del>a</del> c <del>t</del> tt <del>t</del>	2880
tat <del>g</del> aa <del>t</del> at <del>g</del> ta g <del>t</del> t <del>c</del> t <del>g</del> gt <del>t</del> tact <del>g</del> gg <del>t</del> gg catgact <del>g</del> at tgag <del>g</del> tg <del>a</del> ag <del>t</del>	2940
ctcac <del>g</del> gg <del>g</del> cc cagg <del>c</del> t <del>g</del> acc <del>g</del> g <del>t</del> c <del>t</del> tg <del>a</del> cc <del>g</del> t <del>t</del> ccact <del>g</del> ta gatag <del>g</del> tt <del>g</del> g t <del>c</del> at <del>c</del> tg <del>g</del> ca	3000
gaaggcccc <del>a</del> ggac <del>c</del> tc <del>g</del> ag <del>c</del> acacac <del>g</del> cc <del>t</del> cc <del>t</del> tg <del>g</del> gt <del>t</del> ctg <del>a</del> gtag <del>g</del> agg <del>c</del> at <del>c</del> at <del>g</del> t <del>g</del> gg <del>t</del>	3060
ggcc <del>c</del> ag <del>a</del> t <del>c</del> t <del>g</del> tt <del>t</del> tccat <del>g</del> gg <del>t</del> tt acat <del>t</del> act <del>g</del> tg <del>c</del> t <del>g</del> t <del>a</del> t <del>c</del> t cagat <del>g</del> tt <del>g</del> g	3120
t <del>g</del> t <del>c</del> t <del>g</del> gaag <del>t</del> tt <del>t</del> ta agagact <del>g</del> ct accc <del>a</del> g <del>c</del> t <del>g</del> g t <del>c</del> t <del>g</del> t <del>a</del> t <del>t</del> tg <del>t</del> tt <del>g</del> ca	3180
ttcact <del>g</del> aaa tacagc <del>a</del> gt <del>g</del> t <del>g</del> t <del>g</del> gagg <del>t</del> g at <del>g</del> cc <del>c</del> ag <del>t</del> tt aat <del>c</del> t <del>g</del> ct <del>g</del> ta act <del>g</del> tt <del>t</del> tg <del>t</del>	3240
actaat <del>g</del> aca aac <del>c</del> t <del>c</del> tt <del>t</del> ta agat <del>g</del> gt <del>a</del> gaat <del>g</del> gagg <del>t</del> gatag <del>t</del> caca aaagtaa <del>a</del> at <del>g</del>	3300
ttccat <del>t</del> ttt at <del>g</del> aa <del>t</del> at <del>g</del> act tt <del>c</del> t <del>a</del> c <del>g</del> ag <del>t</del> ttt <del>c</del> t <del>t</del> tt <del>t</del> taaagaaaaa acaat <del>g</del> tt <del>c</del>	3360
acatccc <del>c</del> at <del>c</del> t <del>g</del> at <del>g</del> att <del>g</del> cat <del>g</del> t <del>g</del> ta at <del>g</del> aa <del>t</del> at <del>g</del> ct <del>g</del> t <del>c</del> t <del>g</del> gt <del>t</del> ct <del>c</del> cc <del>c</del> t <del>g</del> tg <del>g</del> aa <del>t</del>	3420
acc <del>c</del> tt <del>c</del> cc ct <del>g</del> tg <del>c</del> ct <del>t</del> ta g <del>g</del> c <del>a</del> gg <del>t</del> gt <del>t</del> gt <del>a</del> cat <del>c</del> t <del>c</del> cact <del>a</del> ttt ct <del>c</del> at <del>g</del> gg <del>t</del> g	3480
ct <del>g</del> t <del>t</del> ag <del>t</del> tt <del>t</del> t <del>g</del> g <del>c</del> ac <del>cc</del> cg ttt <del>c</del> t <del>c</del> ag <del>c</del> att <del>c</del> ag <del>c</del> cc <del>a</del> g <del>g</del> gaat <del>g</del> t <del>g</del> g ttt <del>c</del> act <del>t</del> c	3540
tt <del>c</del> gt <del>c</del> ag <del>a</del> t <del>c</del> aagacca <del>a</del> ca t <del>g</del> aagg <del>g</del> gt <del>a</del> t <del>g</del> t <del>g</del> gagaaaa cat <del>c</del> ct <del>g</del> gagg <del>a</del> caagg <del>t</del> gg <del>g</del> ga	3600
ggt <del>g</del> ggat <del>g</del> g ggc <del>c</del> agg <del>a</del> ct <del>t</del> tcc <del>c</del> t <del>c</del> aa <del>a</del> g <del>c</del> ac <del>a</del> t <del>g</del> cat <del>t</del> g <del>g</del> c <del>a</del> gg <del>t</del> gg <del>g</del> gaaagg <del>g</del> gg <del>g</del> gg	3660
ct <del>g</del> c <del>a</del> cccc <del>a</del> t <del>g</del> t <del>g</del> gaa <del>a</del> ag <del>a</del> aaaagg <del>t</del> tt <del>t</del> t <del>g</del> t <del>t</del> at <del>t</del> tt <del>c</del> t <del>g</del> at <del>g</del> caa <del>a</del> at <del>t</del> g <del>t</del> c <del>a</del> t <del>a</del> c <del>t</del> ca	3720
ct <del>g</del> ct <del>c</del> tg <del>a</del> aagg <del>c</del> ag <del>c</del> tg <del>t</del> g <del>c</del> ag <del>c</del> tttt <del>t</del> gggaaaag <del>a</del> aa c <del>g</del> t <del>g</del> ct <del>c</del> g <del>t</del> ct <del>t</del> tg <del>g</del>	3780
cat <del>c</del> aa <del>t</del> ttt ct <del>g</del> c <del>a</del> g <del>c</del> tg <del>t</del> ct <del>c</del> t <del>g</del> agg <del>g</del> ga g <del>a</del> gac <del>a</del> gt <del>g</del> ta g <del>c</del> t <del>g</del> caag <del>c</del> ac <del>t</del> g <del>t</del> c <del>t</del> cccc <del>a</del>	3840
taacaac <del>g</del> gg caact <del>c</del> ag <del>g</del> aagagt <del>c</del> att ttat <del>g</del> tt <del>t</del> tt <del>c</del> cctat <del>g</del> gaat <del>t</del> ct <del>g</del> gaat <del>g</del> ag <del>t</del> g	3900
t <del>g</del> c <del>a</del> g <del>g</del> ct <del>c</del> ct <del>a</del> ccc <del>c</del> ac <del>c</del> at <del>g</del> act <del>g</del> ccc <del>t</del> cg <del>c</del> c <del>a</del> tt <del>t</del> ca t <del>c</del> t <del>g</del> agg <del>c</del> at <del>t</del> t <del>c</del> t <del>g</del> tg <del>a</del> agg <del>t</del>	3960
agatt <del>g</del> gg <del>t</del> ta g <del>t</del> cc <del>a</del> aa <del>a</del> ct <del>t</del> g <del>c</del> ta <del>a</del> c <del>a</del> ta <del>c</del> gaaaatt <del>c</del> ac <del>t</del> tt <del>g</del> gaac <del>a</del> at <del>t</del> g at <del>g</del> ag <del>a</del> gatt <del>t</del>	4020
tcttatt <del>g</del> g <del>t</del> g <del>c</del> caag <del>a</del> g <del>g</del> at <del>t</del> g <del>t</del> tt <del>c</del> t <del>g</del> tc <del>t</del> cc <del>a</del> g <del>g</del> g <del>a</del> ac <del>t</del> cattagg <del>g</del> at <del>t</del> cg <del>c</del> tttt <del>t</del> agg <del>t</del>	4080
gtatt <del>c</del> ag <del>c</del> t <del>t</del> tt <del>g</del> tt <del>c</del> at <del>g</del> ta aataagg <del>c</del> at <del>t</del> ct <del>c</del> t <del>g</del> gaaaaa g <del>t</del> ggcccc <del>a</del> g g <del>g</del> ag <del>a</del> gaa <del>t</del> at <del>g</del>	4140
gaggact <del>g</del> gg aggagaag <del>c</del> ta aact <del>g</del> g <del>g</del> tc t <del>c</del> caagg <del>g</del> gt <del>t</del> t <del>g</del> t <del>g</del> ggc <del>g</del> aga g <del>g</del> act <del>t</del> tg <del>c</del> ta	4200
t <del>g</del> t <del>g</del> aa <del>t</del> ct <del>c</del> a <del>a</del> at <del>g</del> ga <del>a</del> ga gaaaaag <del>a</del> ga g <del>t</del> g <del>c</del> tag <del>t</del> tt <del>a</del> aaaat <del>c</del> gg <del>g</del> gg	4260
	4320

4477

atgttttagt ttggatttag ggtttgata cttatgttga aatactaatg tttctgatca  
ataaaatcaa actcttaata taccgagtaa tgaaaccata gtgtgattgc ctcagaataa  
attgagaagt caaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

4380

4440

4477

<210>2

<211>739

<212>PRT

<213>人属人种 (Homo sapiens)

<400>序列号

Met	Ala	Pro	Trp	Leu	Gln	Leu	Cys	Ser	Val	Phe	Phe	Thr	Val	Asn
1				5					10				15	
Ala	Cys	Leu	Asn	Gly	Ser	Gln	Leu	Ala	Val	Ala	Ala	Gly	Gly	Ser
				20					25				30	
Gly	Arg	Ala	Arg	Gly	Ala	Asp	Thr	Cys	Gly	Trp	Arg	Gly	Val	Gly
				35					40				45	
Pro	Ala	Ser	Arg	Asn	Ser	Gly	Leu	Tyr	Asn	Ile	Thr	Phe	Lys	Tyr
				50					55				60	
Asp	Asn	Cys	Thr	Thr	Tyr	Leu	Asn	Pro	Val	Gly	Lys	His	Val	Ile
				65					70				75	
Ala	Asp	Ala	Gln	Asn	Ile	Thr	Ile	Ser	Gln	Tyr	Ala	Cys	His	Asp
				80					85				90	
Gln	Val	Ala	Val	Thr	Ile	Leu	Trp	Ser	Pro	Gly	Ala	Leu	Gly	Ile
				95					100				105	
Glu	Phe	Leu	Lys	Gly	Phe	Arg	Val	Ile	Leu	Glu	Glu	Leu	Lys	Ser
				110					115				120	
Glu	Gly	Arg	Gln	Cys	Gln	Gln	Leu	Ile	Leu	Lys	Asp	Pro	Lys	Gln
				125					130				135	
Leu	Asn	Ser	Ser	Phe	Lys	Arg	Thr	Gly	Met	Glu	Ser	Gln	Pro	Phe
				140					145				150	
Leu	Asn	Met	Lys	Phe	Glu	Thr	Asp	Tyr	Phe	Val	Lys	Val	Val	Pro
				155					160				165	
Phe	Pro	Ser	Ile	Lys	Asn	Glu	Ser	Asn	Tyr	His	Pro	Phe	Phe	
				170					175				180	
Arg	Thr	Arg	Ala	Cys	Asp	Leu	Leu	Gln	Pro	Asp	Asn	Leu	Ala	
				185					190				195	
Cys	Lys	Pro	Phe	Trp	Lys	Pro	Arg	Asn	Leu	Asn	Ile	Ser	Gln	His
				200					205				210	
Gly	Ser	Asp	Met	Gln	Val	Ser	Phe	Asp	His	Ala	Pro	His	Asn	Phe
				215					220				225	
Gly	Phe	Arg	Phe	Phe	Tyr	Leu	His	Tyr	Lys	Leu	Lys	His	Glu	Gly
				230					235				240	

Pro Phe Lys Arg Lys Thr Cys Glu Gln Gln Thr Thr Glu Met  
245 250 255  
Thr Ser Cys Leu Leu Gln Asn Val Ser Pro Gly Asp Tyr Ile Ile  
260 265 270  
Glu Leu Val Asp Asp Thr Asn Thr Thr Arg Lys Val Met His Tyr  
275 280 285  
Ala Leu Lys Pro Val His Ser Pro Trp Ala Gly Pro Ile Arg Ala  
290 295 300  
Val Ala Ile Thr Val Pro Leu Val Val Ile Ser Ala Phe Ala Thr  
305 310 315  
Leu Phe Thr Val Met Cys Arg Lys Lys Gln Gln Glu Asn Ile Tyr  
320 325 330  
Ser His Leu Asp Glu Glu Ser Ser Glu Ser Ser Thr Tyr Thr Ala  
335 340 345  
Ala Leu Pro Arg Glu Arg Leu Arg Pro Arg Pro Lys Val Phe Leu  
350 355 360  
Cys Tyr Ser Ser Lys Asp Gly Gln Asn His Met Asn Val Val Gln  
365 370 375  
Cys Phe Ala Tyr Phe Leu Gln Asp Phe Cys Gly Cys Glu Val Ala  
380 385 390  
Leu Asp Leu Trp Glu Asp Phe Ser Leu Cys Arg Glu Gly Gln Arg  
395 400 405  
Glu Trp Val Ile Gln Lys Ile His Glu Ser Gln Phe Ile Ile Val  
410 415 420  
Val Cys Ser Lys Gly Met Lys Tyr Phe Val Asp Lys Lys Asn Tyr  
425 430 435  
Lys His Lys Gly Gly Arg Gly Ser Gly Lys Gly Glu Leu Phe  
440 445 450  
Leu Val Ala Val Ser Ala Ile Ala Glu Lys Leu Arg Gln Ala Lys  
455 460 465  
Gln Ser Ser Ser Ala Ala Leu Ser Lys Phe Ile Ala Val Tyr Phe  
470 475 480  
Asp Tyr Ser Cys Glu Gly Asp Val Pro Gly Ile Leu Asp Leu Ser  
485 490 495  
Thr Lys Tyr Arg Leu Met Asp Asn Leu Pro Gln Leu Cys Ser His  
500 505 510  
Leu His Ser Arg Asp His Gly Leu Gln Glu Pro Gly Gln His Thr  
515 520 525  
Arg Gln Gly Ser Arg Arg Asn Tyr Phe Arg Ser Lys Ser Gly Arg  
530 535 540  
Ser Leu Tyr Val Ala Ile Cys Asn Met His Gln Phe Ile Asp Glu  
545 550 555

26

Glu Pro Asp Trp Phe Glu Lys Gln Phe Val Pro Phe His Pro Pro  
560 565 570  
Pro Leu Arg Tyr Arg Glu Pro Val Leu Glu Lys Phe Asp Ser Gly  
575 580 585  
Leu Val Leu Asn Asp Val Met Cys Lys Pro Gly Pro Glu Ser Asp  
590 595 600  
Phe Cys Leu Lys Val Glu Ala Ala Val Leu Gly Ala Thr Gly Pro  
605 610 615  
Ala Asp Ser Gln His Glu Ser Gln His Gly Gly Leu Asp Gln Asp  
620 625 630  
Gly Glu Ala Arg Pro Ala Leu Asp Gly Ser Ala Ala Leu Gln Pro  
635 640 645  
Leu Leu His Thr Val Lys Ala Gly Ser Pro Ser Asp Met Pro Arg  
650 655 660  
Asp Ser Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Val Pro Ser Ser Glu Leu Ser  
665 670 675  
Leu Pro Leu Met Glu Gly Leu Ser Thr Asp Gln Thr Glu Thr Ser  
680 685 690  
Ser Leu Thr Glu Ser Val Ser Ser Ser Gly Leu Gly Glu Glu  
695 700 705  
Glu Pro Pro Ala Leu Pro Ser Lys Leu Leu Ser Ser Gly Ser Cys  
710 715 720  
Lys Ala Asp Leu Gly Cys Arg Ser Tyr Thr Asp Glu Leu His Ala  
725 730 735  
Val Ala Pro Leu  
739